

Helsinki 18.11.2004

ETUOIKEUSTODISTUS  
PRIORITY DOCUMENT



Hakija  
Applicant

Uniq Bioresearch Oy  
Ilmajoki

Patenttihakemus nro  
Patent application no

20031506

Tekemispäivä  
Filing date

15.10.2003

Kansainvälinen luokka  
International class

A23J

Keksinnön nimitys  
Title of invention

"Menetelmä proteiinipitoisen tuotteen vahvistamiseksi ja  
proteiinipitoinen tuote"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä  
Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä,  
patenttivaatimuksista, tiivistelmästä ja piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the  
description, claims, abstract and drawings originally filed with the  
Finnish Patent Office.

  
Pirjo Kalla  
Tutkimussihteeri

Maksu 50 €  
Fee 50 EUR

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001  
Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry No.  
1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and  
Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500 Telefax: 09 6939 5328  
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500 Telefax: + 358 9 6939 5328  
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

BEST AVAILABLE COPY

L1

## Menetelmä proteiinipitoisen tuotteen vahvistamiseksi ja proteiinipitoinen tuote

Keksinnön kohteena on menetelmä proteiinipitoisten tuotteiden rakenteen vahvistamiseksi käyttämällä muunnettua proteiinia tai muunnellusta proteiinista tehtyjä fraktioita. Keksinnön kohteena on myös menetelmällä valmistettu proteiinipitoinen tuote.

Monet elintarvikkeet, hyvin proteiinipitoisetkin, tarvitsevat rakenteensa tueksi tukiaineen, jotta niiden rakenne saadaan kuluttajan vaatimusten mukaiseksi ja kestä-  
mään sellaisenaan käyttöön asti. Rakenteen kestävämyys ilmenee viskositeetin al-  
nemisena tai nestefaasin eroamisena.

Yleisiä proteiinipitoisia elintarvikkeita ovat varsinkin maitopohjaiset tuotteet, yleensä vähärasvaiset tai rasvattomat, kuten jogurtit, viilit, vanukkaat, leivitteet, jää-  
telöt ja juomat. Näissä haluttu rakenne on saatu nostamalla proteiinipitoisuus riittä-  
vän korkeaksi, 6-12 %:iin ja kuumentamalla riittävän korkeassa lämpötilassa riittä-  
vän kauan, tai lisäämällä sakeuttamis- ja stabilointiainetta, liivatetta, modifioima-  
tärkkelystä, pektiiniä, karrageenia, johanneksenleipäpuujauhetta, guarkumia tms.

Yleisesti tunnetaan proteiinien geelinmuodostusta edistäviä ominaisuuksia ja näitä ominaisuuksia on tutkittu laajalti. Kuitenkaan geelinmuodostuksen kaikkia meka-  
nismeja ja tekijöitä ei täysin tunneta. Esimerkiksi erilaisilla maito- ja heraproteiini-  
neilla on omat, usein monimutkaisetkin roolinsa geelinmuodostuksessa syntyvän  
proteiiniverkon muodostumisessa.

Tekniikan tason mukaisesti esimerkiksi jogurtin valmistuksessa on olennaista nos-  
taa maidon proteiinipitoisuutta ja nykyisin käytössä olevien menetelmien mukaan  
vahvistaa rakennetta kuumentamalla. Valmistus aloitetaan maidon proteiinipitoi-  
suuden nostamisella konsentroimalla maito haihduttamalla, kuumentamalla korke-  
assa lämpötilassa riittävän pitkän aikaa tai lisäämällä maitojauhetta, tavallisesti ras-  
vatonta maitojauhetta niin, että maidon kuiva-aineen määrä lisääntyy 8,5-9,0 %:sta  
10,5-13,0 %:iin. Sopiva kuiva-ainepitoisuus määräytyy rasvapitoisuuden mukaan.  
Tässä vaiheessa lisätään muutkin tarpeelliset ainesosat kuten rasva, sokeri sekä sta-  
bilointi- ja sakeuttamisaineet.

Seuraavassa prosessin vaiheessa esikäsittelyn maidon lämpötila nostetaan 50-  
65 °C:seen ja homogenisoidaan 150-200 barin paineessa. Tuloksena saadaan mää-  
rältään enemmän rasvapallosia, joiden pinnalla on kaseiinimisellien osasia ja hera-

proteiineja. Samoin vapaana olevat kaseiinimisellit lisääntyvät. Kaseiiniosaset ja heraproteiinit, sekä rasvapallosten pinnalla että vapaat, osallistuvat proteiiniverkon muodostukseen

- 5 Valmistusprosessin tärkeä vaihe on maitoproteiinien denaturointi kuumentamalla. Samassa yhteydessä vähennetään pilaajabakteerien määrää hygieniatason säilyttämiseksi. Proteiinien denaturointi vaatii yleensä vähintään 85 °C:n lämpötilan ja 15–30 minuutin keston. Sama vaikutus saadaan myös korkeammilla lämpötiloilla ja lyhyemmillä käsittelyajoilla.

- 10 Kuumennuksen aikana toisena vaiheena proteiinien denaturoitumisen jälkeen, kun denaturoitumisessa on vapautunut varsinkin heraproteiineissa ja niistä  $\beta$ -laktoglobuliinissa sulphydryyli (SH) -ryhmiä, jotka saavat aikaan vaihtoreaktion SH- ja disulfidi (SS) -ryhmien välillä. Tämän reaktion seurauksena muodostuu heraproteiinien, kappa-kaseiinin ja kaikkien seoksessa olevien proteiinien, joilla on rakenteessaan disulfididisidoksia tai ryhmiä, avaruusverkko, mikä ilmenee geeliytymisenä, kun pH laskee alle 5:n. Verkkorakenteen vahvuus riippuu eniten proteiinipitoisuudesta ja kuumennuksen vaikuttavuudesta. Verkkorakenne vahvistaa jorgurtin rakennetta ja estää heran erottumista säilytyksen aikana.

- 20 Perinteinen heraproteiinien avulla suoritettu geelinmuodostus siis nojaa  $\beta$ -laktoglobuliinien sulphydryyliryhmiin, joita on yksi jokaisessa  $\beta$ -laktoglobuliinimonomeerissä. Tämä on yleensä rajoittava tekijä geelinmuodostuksessa, sillä  $\beta$ -laktoglobuliinia on läsnä rajallinen määrä. Esimerkiksi heran sisältä-  
25 mässä  $\alpha$ -laktalbumiinissa, joka on myös eräs määrältään suurimmista heran proteiinikomponenteista, ei ole vapaita sulphydryyliryhmiä. Vapaiden sulphydryyliryhmien määrää voidaan yrittää nostaa muilla keinoilla, mutta yleensä ne eivät ole käyttökelpoisia esimerkiksi elintarviketeollisuudessa. Esimerkkinä tästä voidaan mainita  
30 Stevenson *et al.* (J. Agric. Food Chem. 1995, 44:2825–2828), jossa esitetään nautaan heran  $\beta$ -kaseiinin kemiallinen tiolointi, jolloin saadaan synteettinen proteiini, joka sisältää vapaita sulphydryyliryhmiä ja lukuisia disulfididisidoksia.

- Myös kysteiini pystyy avaamaan disulfididisidoksia SH ryhmän sisältävänä pienenä yhdisteenä, mutta sillä ei ole rakennetta vahvistavaa ominaisuutta itsellään, koska  
35 siltä puuttuu vahventavan proteiiniverkon muodostamisominaisuus, mihin vaaditaan vähintään kaksi SH-ryhmää. Lisäksi kysteiini on tietyssä konsentraatiossa jälkeen lääkela-  
kelain alainen Suomessa, mikä rajoittaa sen käyttömahdollisuuksia. Britanniassa suurin sallittu määrä on esimerkiksi taikinan valmistuksessa 70 ppm.

Jogurtin rakenteeseen vaikutetaan yleensä valmistuksen myöhemmissä vaiheissa pääasiassa hapattamalla ja sen antamalla mahdollisella rakenteen tuella sekä sekoituksella ja sen voimakkuudella.

- 5 Etenkin rasvattoman jogurtin ja viilin valmistuksessa joudutaan lisäämään proteiinin määrää enemmän kuin rasvan sisältävissä tuotteissa, koska siitä puuttuvat rasvapallosten pinnalla olevat kaseiinin ja heran proteiinit.

- 10 Kuumennuksen seurauksena muodostuu kuitenkin monia sivumuotteita, jotka alentavat proteiinien ravintoarvoa ja saattavat vaikuttaa nautittuna epäduellisesti esimerkiksi allergeeneina (Walstra, P. *et al.* Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker 1999.).

- 15 Rakenteen vahvennukseen käytetyt sakeuttamis- ja stabilointiaineet eivät kuulu maidon omiin ainesosiin vaan ovat peräisin eläinten eli ruhonosista, kuten liivate, tai kasvien osista, kuten pektiini, karrageeni, guarkumi ym. eikä niillä ole merkittävää ravinnollista arvoa. Lisäksi tiettyjen eläinperäisten lisäaineiden, kuten liivatteen, käyttöön voi liittyä terveydellisiä tai eettisiä seikkoja, jotka rajoittavat niiden käyttöä.

- 20 On siis tarvetta uudentaiselle menetelmälle elintarvikkeiden rakenteen vahvistamiseksi välttämättä tuotteen turhaa kuumentamista tai ylimääräisten sakeuttamis- tai stabilointiaineiden lisäämistä.

- 25 Yleisesti tunnetaan menetelmiä proteiinin, kuten esimerkiksi kaseiniproteiinin, muuntamiseksi ja fraktioimiseksi. Eräs tällainen menetelmä on muuntaa proteiinin rakennetta niin, että proteiinin aminohappoketjujen väliset rikkisillat eli disulfididisidokset avokaisaan.

- 30 Yleensä tämä suoritetaan sulfonointireaktiolla, jolloin proteiinit saatetaan kosketuksiin sulfiittioneja muodostavan reagenssin kanssa proteiinien sulfonoimiseksi. Tällöin käynnistyy hapetus-pelkistysreaktio, jossa proteiinin rikkisillan toinen rikki hapettuu sulfonaatiksi ja toinen pelkistyy sulfhydryyliryhmäksi. Lisäämällä mukaan vielä hapettava tekijä hapettuvat vapaat sulfhydryyliryhmät jälleen disulfididisidoksi, jotka puolestaan jatkavat reaktiossa niin kauan, kunnes kaikki sulfhydryyliryhmät ovat sulfonoinneet tai reaktion jokin muu tekijä on muodostunut rajoittavaksi.

Esimerkiksi julkaisuista FI101514 ja FI107116 tunnetaan menetelmiä proteiinien sulfonoimiseksi ja muuntamiseksi proteiinien eristämistä varten. Julkaisussa FI101514 esitetään menetelmä, jossa muunnetaan heran proteiinien rakennetta sulfonoinnin avulla ilman katalysaattoria. Julkaisuissa ei esitetä spesifisiä käyttötar-  
5 noksia tai sovellusmenetelmiä eristetyille proteiineille.

Julkaisussa FI107116 esitetään menetelmä proteiinien rakenteen muuntamiseksi saattamalla proteiini kosketuksiin sulfiitti-ioneja muodostavan reagenssin kanssa proteiinin sulfonoimiseksi ilman hapetinta. Laskemalla sulfonoidun proteiinin pH  
10 happaman puolelle vapautuvat sulfonaattiryhmät proteiinista rikkidioksidina, joka on poistettavissa liuksesta puhaltamalla. Muunnetusta proteiinista osa saostuu al-  
haisessa pH:ssa ja osa jää liukoiseksi. Proteiini on otettavissa talteen joko saostu-  
man ja liukaisen seoksena, heran kokonaisproteiinina tai saostuma- ja liukoisena  
fraktionä ja niille suoritetaan mahdollinen jälkikäsittely. Tämä menetelmä perustuu  
15 siihen, että proteiinien muunnossa sulfityöyksi yksistään aiheuttaa jo riittävän disul-  
fidisidosten aukeamisen eikä hapetus ole välttämätöntä proteiinimolckyylin kon-  
formaation muuttamiseksi ja proteiinien saostamiseksi happamissa olosuhteissa.  
Hapetuksen poisjääminen yksinkertaistaa ja nopeuttaa prosessia ja parantaa sen  
20 kannattavuutta.

Saostumafraktio sisältää  $\alpha$ -laktalbumiinia, naudan seerumialbumiinia (BSA) ja jon-  
kin verran  $\beta$ -laktoglobuliinia. Liukoinen fraktio sisältää oleellisesti vain  $\beta$ -  
laktoglobuliinia. Kaikki proteiinit ovat muunnettuja ja niillä on parantuneet toimin-  
nalliset ominaisuudet. Muunnetulla heraproteiinilla ja molemmilla fraktioilla on  
25 tietyt otolliset sovellutuskohdeet, kuten liukoisella fraktiolla kalvojen muodostuk-  
sessa ja muunnetulla sekä saostumafraktiolla emulgointi ja rakenteen vahvennus.  
Näistä kolmesta jalosteesta voidaan valita tilannekohtaisesti sovellutukseen tai tuot-  
teeseen parhaiten sopiva. Lisäksi fraktioiden sisältämien eri proteiinien määriin voi-  
daan vaikuttaa reaktio-olosuhteita muuttamalla, esimerkiksi nostamalla saostuksessa  
30 käytettävää pH:ta.

Julkaisun FI107116 menetelmässä proteiinien, kuten esimerkiksi hera- tai soijapro-  
teiinien, disulfididosten avaaminen ja konformaation muunto saadaan aikaan sulfi-  
tolyysillä, jossa sulfiitti-ioni reagoi spesifisesti disulfididoksen toisen rikin kanssa  
35 ja muodostaa S sulfonaattijohdannaisen. Toinen rikki pelkistyy sylfhydryyliryh-  
mäksi. On edullista käyttää sulfiittina alkalimetallin tai maa-alkalimetallin sulfiittia,  
veysulfiiittia tai metabisulfiiittia tai näiden yhdistelmiä. Käyttökelpoisimpia sulfiitte-  
ja tässä menetelmässä ovat liukoiset ja elintarvikelaatuiset natriumsulfiiitti, natrium-

vetysulfiitti sekä natriummetabisulfiitti, mutta myös muita soveltuvia sulfiittiyhdisteitä voidaan käyttää. Kaikista edellä mainituista sulfiiteista muodostuu reaktioolosuhteissa valtaosaltaan natriumsulfiittia ja natriumvetysulfiittia.

- 5 Tärkein muuntoasteeseen vaikuttava tekijä sulfitolyysissä on puolestaan sulfiitin määrä proteiinimäärää kohti. Yllättäen on havaittu, että riittävä sulfiitin määrä on pienempi kuin mitä esimerkiksi FI107116 esiintää. Keksinnön mukaisesti käytettävä sulfiittilisa on natriummetabisulfiittina noin 0,01–0,06 % (paino/tilavuus), kun proteiinin määrä liuoksessa on 10–11 % (paino/tilavuus).

10

- Tämän keksinnön tavoitteena on esittää uudentyyppinen menetelmä proteiinipitoisten tuotteiden, yleisesti elintarvikkeiden, rakenteen vahvistamiseksi käyttämällä muunnettua proteiinia, edullisesti heraproteiinia, missä muunnon tuloksena proteiini sisältää vapaita sulfhydryyli (SH) -ryhmiä (Kuva 1), jotka ovat peräisin proteiinissa alun perin olleista disulfidisidoksista. Lyhyen lämpökäsittelyn, kuten esimerkiksi pastöroinnin, tuloksena vapaat SH-ryhmät saavat aikaan vaihtoreaktion, jolloin muodostuu disulfidi (SS) -sidoksia ja proteiinit muodostavat avaruusverkon, joka tukee proteiinipitoisen tuotteen rakennetta. Näin vältetään perinteisten menetelmien pitkä lämpökäsittely, kuten esimerkiksi yleisesti käytetty 85 °C 15–30 min tai sitä vastaavaa käsittely (kuva 2).

20

Keksinnön mukaiselle menetelmälle ja tuotteelle on tunnusomaista, mitä on esitetty itsenäisissä patenttivaatimuksissa. Keksinnön eräitä edullisia suoritusmuotoja on esitetty epäitsenäisissä patenttivaatimuksissa.

25

- Keksinnön tarkoituksena on saada aikaan yksinkertainen menetelmä elintarvikkeen, edullisesti maitopitoisen elintarvikkeen, kuten esimerkiksi jogurtin, rakenteen vahvistamiseksi maidon omien, ravinnollisesti arvokkaiden proteiinien avulla käyttämättä korkeita lämpötiloja proteiinin rakenteen muuntoon/denaturointiin, missä yhteydessä tiedetään muodostuvan proteiinin ravintoarvoa heikentäviä yhdistettä.

30

- Elintarvikkeella tarkoitetaan tässä yhteydessä mitä tahansa syötäväksi kelpavaa tuotetta tai sen esiasetetta niin ihmisten kuin eläintenkin käyttöön. Tavanomaisten elintarvikkeiden lisäksi elintarvike voi siis myös tarkoittaa esimerkiksi eläimille tarkoitettua rehua tai kotieläimen ruokaa. Elintarvike voi siis olla myös puolivalmis tuote tai sen esiaste, kuten esimerkiksi taikina.

35

Keksinnössä on oivallettu, että esimerkiksi julkaisun FI107116 mukaan valmistettua muunnettua ja fraktioitua heraproteiinia, voidaan käyttää proteiinien rakenteen vahvistamiseen SH- ja SS-ryhmien vaihtoreaktion avulla. Muunnetussa heraproteiinissa ja heraproteiinifraktioissa, jotka ovat maidon omia ainesosia, on vapaita SII-ryhmiä, jotka aiheuttavat vaihtomuutoksen käynnistymisen ja nopeuden lisääntymisen, erityisesti pastörintilämpötilassa. Myös muun tyyppistä proteiinia, kuten esimerkiksi soijaproteiinia, voidaan käyttää. Edellytyksenä on, että keksinnön mukaisessa menetelmässä käytettävässä proteiinissa on alun perin ollut vähintään yksi disulfidisidos, joka voidaan avata muuntoreaktiossa vapaiden SH-ryhmien saamiseksi. Sellaiset proteiinit, joissa disulfidisidoksia tai ylimääräisiä SH-ryhmiä on keinotekoisesti luotu natiiviin proteiiniin, eivät kuulu keksinnön piiriin.

Keksinnön mukaisella menetelmällä minkä tahansa elintarvikkeen proteiinien, kuten esimerkiksi maidon tai maitotuotteen proteiinien, tai muiden syötäväksi kelpaa vien tuotteiden proteiinien, joissa on disulfidisidoksia, vahvistus voidaan suorittaa lisäämällä muunnettua proteiinia, esimerkiksi muunnettua heraproteiinia, sopiva määrä ja kuumentamalla sopiva aika, esimerkiksi pastörintilämpötilassa.

Keksinnön etuna on, että voidaan vähentää elintarvikkeen voimakasta lämpökäsittelyä, mikä voi huonontaa tuotteen makua tai ulkonäköä.

Lisäksi keksinnön etuna on, että saadaan rakenteeltaan vahvempia tuotteita.

Edelleen keksinnön etuna on, että saadaan proteiinipitoisuudeltaan parempia tuotteita.

Edelleen keksinnön etuna on, että voidaan välttää ylimääräisten sakentamislisäaineiden käyttöä, esimerkiksi liivateen ja karrageenin käyttöä.

Edelleen keksinnön etuna on, että saaduissa elintarviketuotteissa on funktionaalisia ominaisuuksia.

Edelleen keksinnön etuna on, että käytetään luonnollista alkuperää olevaa proteiinia.

Seuraavassa keksintöä selostetaan yksityiskohtaisesti elintarvikkeiden valmistukseen liittyvien esimerkkien avulla, joissa esitellään joitakin keksinnön suoritusmuo-

toja, mutta joita ei ole tarkoitettu rajoittamaan keksinnön suojapiiriä. Selostuksessa viitataan oheisiin piirustuksiin ja kuvauksiin, joissa

Kuva 1 esittää muuntoreaktiota

5

Kuva 2 esittää vaihtoreaktiota ja vaihtomuuntoa, jossa vaihtoreaktiossa tapahtuu proteiini  $P_1$ :n vaihtomuunto ja muunnettu proteiini P muodostaa alkuperäisen proteiini  $P_1$ :n kanssa proteiiniverkoston ensimmäisen vaiheen

10 Kuva 3 esittää sulfhydryyliryhmien hapettumista disulfidiryhmiksi, jolloin SH-ryhmät vähenevät ja SS-sidosten määrä lisääntyy ja verkoston rakenne vahvistuu

Kuva 4 esittää Amadorin yhdisteen muodostumista

15 Kuva 5 esittää lysinoalaniinin muodostumista lysiinistä ja dehydroalaniinista joko vapaana tai peptidin osana

Kuva 6 esittää akryyliamidin neutralointia, jolloin muodostuu kysteiinin akryloamidijohdannainen, jossa ei ole akryylin kaksoissidosta

20

Edullinen proteiini käytettäväksi keksinnön mukaisessa menetelmässä ja tuotteessa on heraproteiini, kuten naudan heran proteiini, sillä sen biologinen arvo on erittäin korkea. Proteiinin biologinen arvo on suhdeluku, kudoksen muodostukseen käytetyn tyypin määrä suhteessa ruoasta imeytyneen tyypin määrään, mikä kuvaa proteiinin laatua.

25

Biologisen arvon määrittämisessä käytetään tavallisesti kananmunan proteiinia vertailuna ja sen arvoa merkitään 100:lla. Heraproteiinin arvo on silloin 104, lehmän maidon 91, kasciinin 77 ja soijan proteiinin 74.

30

Muunnettu heraproteiini on ravitsevuudeltaan alkuperäisen heraproteiinin vertainen, mutta sen ravitsemuksellista arvoa parantaa sen parempi sulavuus mahalaukussa. Heran pääasialliset proteiinit ovat  $\beta$ -laktoglobuliini,  $\alpha$ -laktalbumiini, seerumin albumiini ja immunoglobuliinit. Alkuperäisen, siis muuntamattoman, heraproteiinin  $\beta$ -laktoglobuliini, jota on noin puolet heran proteiineista, ei sulaa/hydrolysoidu käytännöllisesti katsoen ollenkaan mahalaukussa ja menee muuttumattomana ohutsuoleen. Tämä on tärkeä tekijä maitoallergian ilmenemiselle lapsilla.

35



Muunneltu proteiini tai proteiinifraktiot sisältävät sulfhydryyliryhmiä, jotka aiheuttavat vaihtoreaktion ja sen seurauksena vaihtomuunnon. Vaihtomuunnon tuloksena on proteiinipitoisen tuotteen rakenteen vahvistuminen disulfidisidoksia sisältävien proteiinien muodostaman avaruusverkoston tuloksena, kuten voidaan nähdä kuvassa 2. Siinä esitetään proteiini P<sub>1</sub>:n vaihtomuunto vaihtoreaktiossa ja verkoston muodostumisen ensimmäinen vaihe. Muunneltu proteiini P muodostaa alkuperäisen proteiini P<sub>1</sub>:n kanssa proteiiniverkoston ensimmäisen vaiheen. Reaktio jatkuu, kunnes verkosto on muodostunut. SH-ryhmien määrä pysyy samana, ellei SH-ryhmiä haluta vähentää hapettamalla ne disulfidisidoksiksi. Hapettamista kontrolloimalla voidaan säädellä halutunlaisen proteiiniverkoston muodostumista.

Muunnetun proteiinin ja proteiinifraktioiden vapaat sulfhydryyliryhmät tarjoavat useanlaisia suojavaikutuksia elintarvikkeissa ja myös esimerkiksi lemmikkieläinten ruoassa. Mainitut proteiinit ovat vaikutukseltaan antioksidantteja ja vaihtomuunnon tuloksena kasvi- ja mikrobiperäiset proteiinitoksiinit, joissa on disulfidisidoksia, menettävät toksisuutensa. Lisäksi muunnetut proteiinit estävät Maillardin reaktion alkupään yhdisteiden, kuten Amadorin yhdisteen, ja lysiinoalaniinin muodostumista sekä neutraloivat mm. akryyliamidia ja muita akryyli johdannaisia (kuvat 2, 3, 4, 5 ja 6).

Maillardin reaktio on tapahtuma, jossa pelkistävät sokerit, kuten glukoosi, fruktoosi, maltoosi tai laktoosi, reagoivat proteiineissa olevien aminoryhmien kanssa, jolloin proteiinin biologinen arvo laskee. Maillardin reaktion tuloksena syntyy monenlaisia tuotteita, jotka voivat vaikuttaa elintarvikkeen makua ja ulkonäköä huomontavasti sekä toimia allergeeneinä.

Vaihtoreaktiossa proteiinin, edullisesti muunnetun heraproteiinin, vapaat SH-ryhmät aiheuttavat kuumennettaessa heraproteiinin tai minkä tahansa proteiinin SS-ryhmän avautumisen ja samalla uuden SS-ryhmän muodostumisen vapaan SH-ryhmän kanssa. Reaktion jatkuessa sopivan SH-ryhmien määrän aikaansaamana tietyn ajan tuloksena on sopivan vahvuinen proteiinirakenne. Rakenneverkon muodostuksessa ovat mukana heraproteiinit ja kaseiinit vapaina liuoksessa sekä rasvapisaroiden pinnalla, missä proteiinit proteiiniverkkona toimivat emulgaattoreina.

Vaihtoreaktiossa SH-ryhmien määrä ei siis pienene. SH-ryhmien määrää voi pienentää hapettamalla ne esim. ilman hapella disulfidiryhmiksi  $2 \text{SH} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{S-S} + \text{H}_2\text{O}$ , mikä vahvistaa edelleen tuotteen rakennetta (kuva 3).

Lopputuotteiden toiminnallisiin ja muihin ominaisuuksiin pystytään vaikuttamaan muuntoasteella eli avartujen disulfididisidosten määrällä suhteessa proteiinin disulfididisidosten määrään. Käyttötarkoituksesta riippuen vapaita SH-ryhmiä voi jättää sopivan määrän tavoitteesta riippuen, koska SH ryhmät toimivat antioksidanteina, neutraloivat vaihtomuunnolla kasveista tai mikrobeista peräisin olevia toksisia proteiiniyhdisteitä ja esimerkiksi akryyliamidia reagoimalla sen kaksoissidoksen kanssa (Friedman, M., J. Agric. Food Chem. 42 (1994) 3-20) (kuva 6). Lisäksi vapaita SH-syhmät estävät kemiallista ja entsyymaattista tummumista sekä detoksifioivat ja neutraloivat mm. homeen tuottamia aflatoksiinia. Ne myös sitovat nitriittia, kelatoivat hapettavia  $\text{Cu}^{2+}$  ja  $\text{Fe}^{2+}$ -ioneita sekä toksisia  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ja  $\text{Se}^{2+}$ -ioneita. Vapaita SH-ryhmiä sisältävän proteiinin avulla elintarvikkeesta voidaan siis muodostaa funktionaalinen eli terveysvaikuttainen tuote, mikä keksinnön yhteydessä myös yllättäen havaittiin. Vapailla SH-ryhmillä on myös terapeuttisia ominaisuuksia, kuten esimerkiksi alkoholin aiheuttaman ruoansulatuskanavan limakalvon vaurioita parantavia ominaisuuksia (Loguercio C. *et al.* Gut 34 (1993) 161-165).

Vapaita sulfhydryyliryhmiä lisätään valmistettavaan tuotteeseen laskettuna tuotteen kokonaisproteiinin määrästä esimerkiksi 0,5-60  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia, edullisesti noin 5-20  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia, ennen vaihtomuunta. Tehdyissä kokeissa on havaittu, että kun vapaita SH-ryhmiä on vähintään tietty määrä, se havaitaan tuotteessa metallisena jälkimakuna. Kysteiinin SH-ryhmien maistuvuusraja jälkimakuna oli 30 ppm eli 25  $\mu\text{mol/l}$ . Maistajista ei kukaan maistanut tätä määrää jälkimakuna rasvattomassa maidossa, maustamattomassa jogurtissa tai vähärasvaisessa viilissä. Rasvattomassa jogurtissa muunnetusta heraproteiinista peräisin olevat SH-ryhmät eivät maistuneet vielä pitoisuutena 30  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia. Kuitenkin esimerkiksi jälkikasiteltaessa tuotetta myöhemmin, kuten steriloinnin aikana, voi siinä muodostua sivutuotteita, jotka reagoivat vapaiden SH-ryhmien kanssa vähentäen niitä ja samalla myös alentaa lopullista SH-ryhmien maistuvuuskynnystä. Tämä voidaan ottaa huomioon jo perustuotteen vapaiden SH-ryhmien määrää suunniteltaessa.

Jogurtin valmistus perinteisellä tavalla rasvattomasta (rasvaa noin 0,05 %) maidosta vaatii yleensä maidon konsentroinnin vettä haihduttamalla niin, että kuiva-aineen määrä lisääntyy 2-3 prosenttiyksikköä eli saman määrän, minkä noin 2 % (noin 20 g/l) rasvattoman maitojauheen lisäys antaa.

Keksinnön erään edullisen suoritusmuodon mukaan samaan vaikutukseen päästään lisäämällä rasvattomaan maitoon muunnetun heraproteiinin ja heraproteiinijauheen

## 10

seosta 0,8–1,6 prosenttiyksikköä (8–16 g/litra) proteiinina proteiinimäärien suhteessa 10–20 % muunnettua heraproteiinia ja 80–90 % 75-prosentista heraproteiinkonsentraattia tai vastaava määrä tai osa esimerkiksi soijaproteiinijauhetta tai muuta proteiini valmistetta. Jos halutaan valmistaa vähärasvaista jogurttia kasvisöljyllisellä, 5 öljy (esimerkiksi 0,5–1,0 %) lisätään tässä vaiheessa. Vähärasvaisen maidon rakenteen vahvistamiseen tarvitaan pienemmät määrät, noin 0,6–1,0 prosenttiyksikköä proteiinia.

10 Muunnettu heraproteiini on koostumukseltaan kuten muuntamaton heraproteiini. Muunnossa osa sen sisältämistä disulfidisidoksista on avattu ja niistä on muodostunut vapaita SH-ryhmiä. Muunnetussa heraproteiinissa vapaiden SH-ryhmien määrä on yleensä noin 65–85  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia, edullisesti noin 75  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia, kuten jäljempänä olevissa esimerkeissä on käyty.

15 Seos voidaan homogenoida lievästi esimerkiksi 50 °C:ssa ja 100 barin paineella ainesosien tasaisen jakautumisen varmistamiseksi. Lisättäessä rasvaa tai öljyä 0,5–1,5 % ravinnollisista syistä, esimerkiksi rypsiöljyä, oliiviöljyä, auringonkukkaöljyä, pellavansiemenöljyä tai vastaavaa terveysvaikuteista tuotetta, homogenisointi suoritetaan esimerkiksi 55–60 °C:ssa ja 150–200 barin paineella öljyn emulgoimiseksi. 20 tarpeeksi pieniksi, alle 1  $\mu\text{m}$ :n tasakokoisiksi palloiksi tai pisaroiksi.

Homogenoinnin jälkeen maito pastöroidaan esimerkiksi 75–80 °C:ssa 5–10 minuuttia vaihtoreaktion aikaansaamiseksi.

25 Kuumennuskäsittelyn jälkeen maito jäähdytetään hapanteen siirrostus- ja hapatuslämpötilaan 42–45 °C:seen. Hapatus kestää 3–6 tuntia ja riippuu lämpötilasta ja hapanteena käytetyistä bakteereista. Jogurtin happaneminen lopetetaan pH:ssa noin 4,3–4,6, mistä se laskee vielä vähän jäähdytyksen ja säilytyksen aikana. Jogurtin rakenne/geeli on vahvimmillaan pH:ssa 4,65, jolloin viskositeettikin on suurimmillaan. 30 laan.

Hapauksen jälkeen jogurtti jäähdytetään alle 20 °C:seen ja sekoitetaan varovaisesti. Jogurtti pakataan pikareihin tai tölkkeihin ja jäähdytetään säilytyslämpötilaan 6–8 °C.

35

Erään keksinnön suoritusmuodon mukaan rasvattoman viilin valmistus on mahdollista edellä kuvatulla tavalla käsitelystä maidosta. Rasvattomassa viilissä rakenne jää yleensä heikoksi ja se heroittuu helposti. Vahventamalla rakennetta käytännöllä

vaihtomuuntoa heraproteiinilisan yhteydessä saadaan rakenteeltaan kestävä viiliä, joka ei heroitu. Viiliin voidaan lisätä terveellisiä tyydyttymättömiä öljyjä, kuten rypsi-, pellavansiemen- tai camelina-öljyä, jotka muunnetaan ja vaihtomuunnettu heraproteiini emulgoi homogenisoinnin tuloksena. Viilin oma hapate toimii 20 °C:ssa ja tarvitsee aikaa happanemiseen yli yon tai 12–14 tuntia. Viilin pinnalle kehittyy viilin hapatteesta peräisin oleva tavanomainen valkoe ja samettimainen *Geothrichum*-valkohumekasvusto.

Yleensä vanukkaiden valmistuksen perusaineena on maito, johon lisätään sokeria ja makua antavat ainesosat sekä proteiinia sakeuttamiseen, gelatiinia tai heraproteiinia ja lisäksi pektiiniä, tärkkelystä/muunnettua tärkkelystä tai karrageeniä. Vielä erään keksinnön edullisen suoritusmuodon mukaan käyttämällä vanukkaiden valmistuksessa vaihtomuunnettua heraproteiinia, saadaan ravinnollisesti arvokas proteiinilisa, joka toimii rakenteen vahvistajana kohtuullisella kuumennuksella ja yleisesti käytetyistä sakeuttamis- ja stabilointiaineista, kuten gelatiinista tai karrageenista voidaan luopua.

Proteiinipitoiset levitteet voidaan valmistaa maitopohjalle, kuten hapatetulle maidolle, mihin lisätään rasva, kuten margariini, heraproteiinia, mausteaineet ja sakeuttamisaineet. Keksinnön vielä erään edullisen suoritusmuodon mukaan muunnettua heraproteiinin lisällä voidaan vahvistaa levitteen rakennetta ja saada ravitseva proteiiniannos rakenteen vahvistuksen lisäksi. Samalla muiden sakeuttamisaineiden, kuten esimerkiksi yleisesti tähän tarkoitukseen käytettyjen karrageenin ja johannocksenleipäpuujauheen, määrää voidaan vähentää tai poistaa kokonaan.

Taikinan valmistuksessa käytetään tekniikan tasossa yleisesti kysteiniä taikinan vaivaamisen nopeuttamiseksi ja sekoituksessa tarvittavan energiamäärän vähentämiseksi. Taikinan vaivauksella eli taikinan tehokkaalla sekoituksella avataan mekaanisesti vehnä jauhojen gluteenin disulfididisidoksia. Kysteinin lisäys helpottaa vaihtoreaktiolla disulfididisidosten avautumista ja taikinan pehmenemistä ja löystymistä, mikä on tarpeen leivän lopullisen rakenteen kannalta.

Taikinalla tässä tarkoitetaan mitä tahansa tunnettua leivonnassa tai elintarvikkeiden valmistuksessa käytettävää taikinaa, esimerkiksi leivän, leivonnaisten ja vastaavien tekemiseen. Taikinan valmistamisessa käytetään edullisesti vehnä jauhoja taikinan rakenteen muodostajana, sillä vehnässä on tarpeeksi glutennia rakenteen ylläpitoon. Muita jauhoja kuten ruis-, ohra- tai kaurajauhoja voidaan käyttää lisänä ravinnollisista tai makusyistä.

Kysteiinin käyttö on määrällisesti rajoitettu yleensä 70 ppm:aan. Kysteiinin käyttö-määräksi suositellaan 35-70 ppm riippuen vehnän/jauhojen kovuudesta. Yliannos-tus tuottaa tarttuvaa ja vaikeasti käsiteltävää taikinaa. Käytetyn kysteiinin ravinnol-linen arvo on vähäinen.

5

Taikinan rakenteen vahventaminen muunnetulla heraproteiinilla onnistuu hyvin. SH-ryhmien yliannostuksen vaaraa ei ole ja lisätyllä proteiinilla on ravinnollistakin merkitystä. Heraproteiinijauhetta, proteiinipitoisuus 75 %, on käytetty taikinassa 2-4 %:n suuruisena lisänä jauhojen määrästä. Sillä saadut tulokset ovat olleet vaihte-levia käsittelystä riippuen. Muunnettua heraproteiinia on käytetty 1,5 %:n lisänä jauhojen määrästä proteiinina laskettuna ja sillä on ollut myönteinen vaikutus taiki-nan ominaisuuksiin.

15

Seuraavat esimerkit ja niihin liittyvät testit kuvaavat edellä esitettyä keksintöä so-velletuna eläinten elintarvikkeiden valmistusprosesseihin käyttäen muunnettua heraproteiinia, jossa vapaiden SH-ryhmien määrä on noin 75  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia. On kuitenkin huomattava, että mitä tahansa muuta soveltuvaa ei-syntetistä proteiinia voidaan myös käyttää.

20

Muunnettua heraproteiinia käytetään elintarvikkeiden valmistusprosesseissa aikaan-saamaan vaihtomuunnon avulla proteiinerakenteen vahventumisen muodostamalla avaruusverkon. Se toimii samalla periaatteella myös emulgaattorina, sulaa muunnon seurauksena ruoansulatuskanavassa muuntamatonta heraproteiinia helpommin ja se on ravintoarvoltaan yksi parhaimmista proteiineista.

25

### Esimerkki 1

30

Rasvatonta jogurttia valmistettiin kolme koostumukseltaan erilaista koenäytettä ja yksi vertailunäyte. Kaikki käsiteltiin samalla tavalla.

35

Vertailunäyte sisälsi 980 ml rasvatonta maitoa ja 20,0 g rasvatonta maitojauhetta. Koenäytteet sisälsivät rasvatonta maitoa 920 ml ja 80 ml proteiiniseosta. Koenäyt-teet poikkesivat toisistaan muunnetun heraproteiinin määrän puolesta.

Koenäyte 1 sisälsi muunnettua heraproteiinikonsentraattia 27 ml, missä oli prote-iinipitoisuus 12 % ja 53 ml muuntamatonta heraproteiinikonsentraattia, minkä pro-teiinipitoisuus oli myös 12 %. 80 ml proteiiniseosta sisälsi proteiinia 9,6 g.

## 13

Koenäyte 2 sisälsi muunnettua heraproteiinikonsentraattia 20 % eli 16 ml ja muun-  
tamatonta heraproteiinikonsentraattia 64 ml.

- 5 Koenäyte 3 sisälsi muunnettua heraproteiinikonsentraattia samoin 16 ml ja muun-  
tamatonta heraproteiinikonsentraattia 64 ml. Tämä proteiininen kuumennet-  
tiin/pastöroitiin 78 °C:ssa 5 min.

- 10 Vertailu- ja koenäytteet pastöroitiin 78 °C:ssa 1–2 min ja jäähdytettiin 45 °C:seen.  
Hapate lisättiin tässä lämpötilassa ja hapatteena käytettiin jogurtihapatea 0,30 g/l  
(Yo-Mix VM 1–34; Danisco Cultor) Hapatus kesti 45 °C:ssa noin 7 tuntia, jolloin  
näytteet saavuttivat pH 4,4–4,5 happamuuden. Näytteet jäähdytettiin 5–7 °C:seen,  
muokattiin, pakattiin pikareihin ja pidettiin kylmiössä 1 vuorokauden ennen määri-  
tyksiä. Näytteistä mitattiin viskositeetti ja suoritettiin aistinvarainen arviointi, mihin  
sisältyi ulkonäkö, haju, rakenne, maku ja suutuntuma.

15

Näytteiden viskositeetti mitattiin viskosimetrillä Haage Visco-Tester 7R (kara R4,  
50 rpm) 1–2 vrk valmistuksen jälkeen.

Näytteiden viskositeetit olivat:

20

Vertailunäyte	Koenäyte 1	Koenäyte 2	Koenäyte 3
3300 mPa	3210 mPa	3130 mPa	2280 mPa

Aistinvarainen arviointi; asteikko 1–5; 5 arvioijaa

Näyte	Ulkomuoto	Haju	Rakenne	Maku	Suutuntuma	Keskiarvo
Vertailunäyte	1,8	4,1	2,4	3,6	2,1	2,80
Koenäyte 1	2,5	4,1	2,9	3,1	2,8	3,08
Koenäyte 2	4,5	3,8	2,4	3,0	2,2	3,18
Koenäyte 3	4,2	3,9	4,3	3,6	4,0	4,00

25

Sanallinen kuvaus:

Vertailunäyte: rakeinen, paksu, mieto, hapan, ei pistävää jälkimakua

Koenäyte 1: rakeinen, löysähkö, hapan, kirpeä jälkimaku

Koenäyte 2: rakeinen, paksuhko, hapan, hieman pistävää jälkimakua

Koenäyte 3: rasainen, ohuin, hapan, hieman kirpeää jälkimakua.

### Esimerkki 2

5

Rasvatonta jogurtia valmistettiin kaksi koenäytettä ja yksi vertailunäyte. Kaikki näytteet käsiteltiin samalla tavalla.

Vertailunäyte sisälsi 980 ml rasvatonta maitoa ja 20,0 g rasvatonta maitojauhetta.  
10 Koenäytteissä oli 920 ml rasvatonta maitoa ja 80 ml proteiiniseosta. 80 ml:ssa proteiiniseosta oli 9,6 g proteiinia. Molempiin koenäytteisiin lisättiin sama määrä muunnettua heraproteiinia. Koenäyte 1:een lisättiin vielä dehydroaskorbiinihappoa vapaiden SH-ryhmien hapettamiseksi disulfidiryhmuiksi.

15 Koenäytteisiin lisätty 80 ml proteiiniseosta sisälsi 15 % eli 12 ml muunnettua heraproteiinikonsentraattia ja 85 % eli 68 ml muuntamatonta heraproteiinikonsentraattia. Molempien konsentraattien proteiinipitoisuus oli 12 %.

Vertailu- ja koenäytteet pastöroitiin 80 °C:ssa 3 min ja jäähdytettiin 42 °C:seen.  
20 Koenäyte 1:teen lisättiin 50 mg/l DHAH:ia (dehydroaskorbiinihappo), mikä hankittiin valmiina (Sigma) tai valmistettiin ohjeen mukaan (Tolbert, B.M. & Ward, J.B. 1982 Adv. Chem. Ser. No. 200, p. 101-123) ja pidettiin 30 min sekoittaen 42 °C:ssa ja annettiin reagoida ennen hapatteen lisäämistä.

25 Hapatteena käytettiin Yo-Mix VM 1-34 (Danisco Cultor). Hapate aktivoitiin lisäämällä 20 g sulatettua hapatetta 200 ml:aan 78 °C:ssa 3 min pastöroitua ja 42 °C:seen jäähdytettyä maitoa ja inkuboimalla kaksi tuntia. Aktivoitua hapatetta lisättiin 3,0 ml 1 litraan jogurtimaitoa.

30 Maitoa hapatettiin 42 °C:ssa, kunnes pH laski 4,3:een. Hapattamiseen tarvittu aika oli 1,5 tuntia. Kaikki näytteet saavuttivat vaaditun happamuuden lähes samanaikaisesti eli happaneminen tapahtui kaikissa näytteissä yhtä nopeasti.

35 Näytteet jäähdytettiin 4 °C:seen, muokattiin sekoittamalla tasalaatuisiksi, pakattiin pikareihin ja säilytettiin kylmiössä. Näytteistä mitattiin viskositeetti Haage Viscotester 7R:llä (kara R 4 50 rpm.) 1 vrk valmistuksen jälkeen.

Näytteiden viskositeetit olivat

Vertailunäyte	Koenäyte 1	Koenäyte 2
3300 mPa	2300 mPa	2300 mPa

Koenäytteiden maku oli hapan eikä pistävää metallista jälkimakua ollut.

5

### Esimerkki 3

10 Rasvatonta jogurtia valmistettiin kolme koenäytettä ja yksi vertailunäyte. Vertailunäyte sisälsi rasvatonta maitoa 980 ml ja rasvatonta maitojauhetta 20,0 g. Koenäytteiden koostumus oli kaikilla sama, 920 ml rasvatonta maitoa ja 80 ml proteiiniseosta, mistä muunnetun heraproteiinin osuus oli 15 % eli 12 ml proteiinipitoisuudeltaan 12 %:a proteiiniseosta. Kaikilla näytteillä oli erilainen kuumennuskäsittely.

15 Vertailunäyte pastoroitiin 90 °C:ssa 15 min, koenäyte 1 80 °C:ssa 5 min, koenäyte 2 80 °C:ssa 10 min ja koenäyte 3 80 °C:ssa 15 min. Kaikki näytteet jäähdytettiin 12–45 °C:seen.

20 Hapate lisättiin 42–45 °C jogurtimaitoon. Hapatteena käytettiin Valio Oy:n valmistamaa maustamatonta jogurtia. Sitä lisättiin 4 % eli 40 g/l. Jogurtti hapatettiin happamuuteen pH 4,6. Hapatusaika oli 4–5 tuntia.

Näytteet jäähdytettiin 4 °C:seen, muokattiin sekoittamalla tasarakenteisiksi ja pakattiin 2 dl:n pikareihin. Pikarit säilytettiin kylmiössä 4 °C:ssä.

25

Näytteiden hapatusaika kunnes pH oli 4,6:

Vertailunäyte	Koenäyte 1	Koenäyte 2	Koenäyte 3
5 h	4 h 20 min	4 h 15 min	4 h 30 min

30 Näytteistä mitattiin viskositeetti Haage Visco-Tester 7R:llä (kara R 4 50 rpm) ja suoritettiin aistinvarainen arviointi 1 vrk valmistuksen jälkeen.



Näytteiden viskositeetit olivat

Vertailunäyte	Koenäyte 1	Koenäyte 2	Koenäyte 3
3900 mPa	3600 mPa	3000 mPa	3800 mPa

Aistinvarainen arviointi; asteikko 1–5; 5 arvioijaa:

5

Näyte	Ulkomuoto	Haju	Rakenne	Maku	Suutuntuma	Keskiarvo
Vertailunäyte	4,9	4,1	4,1	3,6	4,0	4,2
Koenäyte 1	4,8	4,2	4,1	4,0	3,9	4,2
Koenäyte 2	4,8	4,1	4,2	4,3	5,0	4,5
Koenäyte 3	4,6	4,1	3,8	4,2	4,2	4,2

Sanallinen kuvaus

Vertailunäyte: sileä, hapan, piimämäinen, ei raikas, venyvä

Koenäyte 1: sileä, tasainen, voimakkaan hapan, piimämäinen, raikas, peltunä, pistävä jälkimaku

Koenäyte 2: sileä, tasainen, voimakkaan hapan, piimämäinen, raikas, pehmeä

Koenäyte 3: sileä, tasainen, hapan, piimämäinen, raikas, hapan.

#### 15 Esimerkki 4.

Rasvatonta jogurttia valmistettiin kaksi koenäytettä ja vertailunäyte. Vertailunäyte sisälsi rasvatonta maitoa 980 ml ja rasvatonta maitojauhetta 20,0 g. Koenäytteiden koostumus poikkesi vain vähän toisistaan. Koenäyte 1 sisälsi 11 g/l kylmäkuivattua proteiiniseosta, missä oli muunnetun proteiinin osuus 15 % kokonaisproteiinista 9,6 g:sta. Koenäyte 2 sisälsi saman määrän proteiiniseosta litrassa, mutta se liuotettiin ensin 80 ml:aan vettä ja lisättiin maitoon litraksi.

Vertailunäyte pastöroitiin 90 °C:ssa 15 min. Koenäyte 1 ja 2 pastöroitiin 80 °C:ssa 15 min. Kaikki näytteet jäähdytettiin 42–45 °C:seen.

Hapatteena käytettiin Valio Oy:n valmistamaa maustamatonta jogurttia. Sitä lisättiin 4 % eli 40 g/l 42–45 °C:seen jäähdytettyyn jogurttimaitoon ja hapatettiin pH 4,5 happamuuteen. Hapatusaika oli noin 4 tuntia.

Näytteet jäähdytettiin 4 °C:seen, muokattiin sekoittamalla tasarakenteiseksi ja pakattiin 2 dl:n pikareihin. Pikarit säilytettiin kylmiössä 4 °C:ssa.

- 5 Koenäytteistä 1 ja 2 osa ajettiin homogenisaattorin läpi ilman painetta. Alkuperäisistä ja homogenisaattorin läpi ajetuista näytteistä (koenäyte 1/p ja 2/p) mitattiin viskositeetit Haage Visco-Tester 7<sup>R</sup>-llä (kara R4 50rpm) ja suoritettiin aistinvarainen arvioinnin arvoin 1 viik valmistuksen jälkeen.

Näytteiden viskositeetit olivat:

10

Vertailunäyte	Koenäyte 1	Koenäyte 2	Koenäyte 1/p	Koenäyte 2/p
4400 mPa	3900 mPa	3700 mPa	1150 mPa	1900 mPa

Aistinvarainen arviointi; asteikko 1-5; 5 arvioijaa:

Näyte	Ulkomuoto	Haju	Rakenne	Maku	Suutuntuma	Keskiarvo
Vertailunäyte	4,4	4,4	3,9	4,2	3,9	4,2
Koenäyte 1	4,8	4,4	4,3	4,1	4,2	4,4
Koenäyte 2	4,8	4,2	4,4	4,2	4,2	4,4
Koenäyte 1/p	5,0	4,4	3,6	3,6	2,8	3,9
Koenäyte 2/p	5,0	4,2	4,4	4,4	4,1	4,4

15

Koenäytteiden rakenteiden paksuudessa ei ollut merkittävää eroavuutta. Koenäytteet koettiin jopa paksummaksi kuin vertailujogurtti. Rakenne oli jokaisessa näytteessä samankaltainen, hieman venyvä ja paksu.

20

Koenäyte 1/p oli rakenteeltaan hieman vetinen ja maussa havaittiin jokin sivumaku. Koenäyte 2/p miellettiin paksuudeltaan sopivaksi, suutuntuuna oli pelmeäni jogurttimainen ja maku raikas. Arviointiyhteenvedon mukaan näyte oli sarjan parhaimpia.

**Esimerkki 5**

- Rasvatonta viiliä valmistettiin kolme koenäytettä ja yksi vertailunäyte. Vertailunäyte sisälsi rasvatonta maitoa 980 ml ja rasvatonta maitojauhetta 20,0 g. Koenäytteet sisälsivät 920 ml rasvatonta maitoa ja 80 ml proteiiniseosta, mistä muunnetun heraproteiinin osuus oli 15 % eli 12 ml proteiinipitoisuudeltaan 12 %:a proteiiniscosta. Loppu 85 % oli muuntamatonta heraproteiinikonsentraattia.

- Kaikki näytteet pastöroitiin 78 °C:ssa 1–2 min. Pastöroinnin jälkeen koenäytteisiin 1 ja 2 lisättiin DHAH:a (dehydroaskorbiinihappoa). Koenäyte 1 jäähdytettiin 42 °C:seen. DHAH:a lisättiin 25 mg/litra ja lämpötila pidettiin 30 min. Koenäyte 2 jäähdytettiin 35 °C:seen. DHAH:a lisättiin 50 mg/litra ja pidettiin 30 min. Kaikki näytteet jäähdytettiin lopuksi 20 °C:seen.

- Hapate lisättiin 20 °C:iseen viilimaitoon. Hapattena käytettiin 5 % eli 50 g/litra Valio Oy:n valmistamaa maustamatonta viiliä, mikä sisälsi rasvaa 1 %. Seos sekoitettiin hyvin ja annosteltiin 2 dl:n pikareihin ja hapatettiin yli yön 20 °C:ssa. Hapituksen jälkeen valmis viili siirrettiin kylmään 4 °C:seen.

- 20 Aistinvarainen arviointi; asteikko 1–5; 5 arvioijaa:

Näyte	Ulkonäkö	Haju	Rakenne	Maku	Suutuntuma	Keskiarvo
Vertailunäyte	4,0	5,0	3,0	4,2	4,3	4,1
Koenäyte 1	4,0	5,0	3,0	4,2	4,3	4,1
Koenäyte 2	4,0	5,0	4,0	4,4	4,5	4,4
Koenäyte 3	4,0	5,0	4,5	4,3	4,5	4,5

- Jokaisen pikarin pinnalla oli hieman epätasaisesti jakautunut *Geothrichum*-homekasvusto. Rakenne oli kaikissa näytteissä jämäkkä, eikä irronnut ylösalaisin käännelystä pikarista.

- Vertailunäyte: pinta himmeä, rakeinen, löysähkö, maku hyvä;  
 Koenäyte 1: pinta himmeä, rakeinen, löysähkö, maku hyvä;  
 Koenäyte 2: pinta kiiltävä, lusikalla tehty kuoppa pysyy suhteellisen hyvänä, maku hyvä;

Koenäyte 3: pinta kiiltävä, paras näytteistä, lohkeava, knoppa pysyy hyvänä, maku hyvä.

## 5 Esimerkki 6

Rasvatonta jogurtia valmistettiin kaksi koenäytettä. Koenäytteisiin lisätty proteiinin määrä oli näyte A:ssa 10 g proteiinia/litra ja näyte B:ssä 13 g proteiinia/litra. Proteiiniseos valmistettiin niin, että 80 ml sisälsi proteiinia noin 10 g. Siitä 15 % (12 ml), joka sisälsi 1,5 g proteiinia, oli muunnettua heraproteiinia (Erä P75) ja 85 % (68 ml), joka sisälsi 8,5 g proteiinia, oli heraproteiinikonsentraattia (Juustokaira Oy, Kuusamo). Näillä painosuhteilla valmistettu liuos kylmäkuivattiin jauheeksi. Tätä jauhetta tarvittiin 12 g 10 g:n proteiinilisäksi.

15 Näyte A:han punnittiin proteiiniseosjauhetta 12 g/litra ja näyte B:hen 15,6 g/litra. Proteiiniseosjauhe sekoitettiin huolellisesti rasvattomaan maitoon litraksi. Jauhe sekoittui ja liukeni hyvin huoneenlämpöiseen maitoon. Tämän jälkeen koenäytteet pastöroitiin 80 °C:ssa 15 min ja jäähdytettiin 43 °C:seen.

20 Hapanteena käytettiin Valio Oy:n tuottamaa maustamatonta jogurtia 4 % (0,5 litran tölkki, Tampere). Hapatus tapahtui 43 °C:ssa. 4,5 tunnin jälkeen näytteiden pH oli saavuttanut 4,6 ja hapatus lopetettiin. Näytteet jäähdytettiin 20 °C:seen, muokattiin sekoittamalla ja siirrettiin jääkaappiin.

25 Koenäytteistä määritettiin SH-ryhmät,  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia Ellmanin reagenssilla:

Koenäyte/ SH $\mu\text{mol/g}$ proteiinia	A	B
Rasvaron maito + proteiiniseos	10,3	11,4
Pastöroinnin jälkeen	13,9	14,5

Koenäytteistä määritettiin viskositeetti vuorokauden jälkeen valmistuksesta 10 °C:ssa Brookfield DV I Viscometer -laitteella (Kara 3, kierrosnopeus 12). Näytteiden viskositeetit olivat

Koenäyte/viskositeetti	A	B
mPas	8000	8600

Aistinvaraisen arvion mukaan näytteet olivat lähes samanlaiset: rakenne oli tasainen ja paksu sekä maku samettisen pehmeä.

## 5 Esimerkki 7

Rasvatonta jogurttia valmistettiin kolme koenäytettä. Koenäytteisiin lisätty proteiiniseoksen määrä oli näyte A 10 g proteiinia/litra, näyte B 12,5 g proteiinia/litra ja näyte C 15,0 g proteiinia/litra. Proteiiniseos valmistettiin sekoittamalla heraproteiini-  
10 iinijauhetta, proteiinipitoisuus 75 %, (Juustokaira Oy, Kuusamo) ja muunnettua heraproteiinia (Erä P75) kylmäkuivattuna niin, että proteiinimääräisen sulate oli 85 % heraproteiini-  
jauhetta ja 15 % muunnetun heraproteiinin jauhetta. 10 g:aan proteiinia tarvittiin seosta 13,0 g.

15 Näyte A:han punnittu proteiiniseoksen määrä oli 13,0 g/litra, näyte B:hen 16,2 g/litra ja näyte C:hen 19,4 g/litra. Proteiiniseokset sekoitettiin huolellisesti rasvatomaan maitoon litraksi. Ne sekoituivat ja liukenesivat hyvin maitoon. Tämän jälkeen näytteet pastöroitiin 80 °C:ssa 15 min ja jäähdytettiin 43 °C:seen.

20 Hapanteena käytettiin Valio Oy:n tuottamaa maustamatonta jogurtia 4 % (0,5 litran tölkki, Tampere). Hapatus tapahtui 43 °C:ssa 4 tuntia, jolloin näytteiden pH:t olivat 4,6. Näytteet jäähdytettiin 20 °C:seen, muokattiin sekoittamalla ja siirrettiin jääkaappiin.

25 Koenäytteistä määritettiin SH-ryhmät,  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia Ellmanin reagenssilla:

Koenäyte/ SH $\mu\text{mol/g}$ proteiinia	A	B	C
Rasvaton maito + proteiiniseos	12,7	13,4	14,0
Pastöroinnin jälkeen	14,8	15,5	18,6

Koenäytteistä määritettiin viskositeetti yhden vuorokauden jälkeen valmistuksesta 20 °C:ssa Brookfield DV 1 Viscometer -laitteella (Kara 3, kierrosnopeus 12).

30

Näytteiden viskositeetit olivat

Koenäyte/viskositeetti	A	B	C
mPas	3700	3800	4000

Kaikki näytteet olivat rakenteeltaan tasaisia ja kiinteitä; maku oli miellyttävän raikas ja samettisen pehmeä.

5

### Esimerkki 8

Rasvatonta seosjogurttia valmistettiin kolme koenäytettä. Näyte A:n proteiinilisä sisälsi heraproteiinia 12,5 g/litra, näyte B:n proteiinilisä sisälsi heraproteiinia ja soijaproteiinia yhteensä 12,5 g/litra, mistä soijaproteiinia oli 10 % ja näyte C:n proteiinilisä sisälsi heraproteiinia ja soijaproteiinia yhteensä 12,5 g/litra, mistä soijaproteiinia oli 20 %. 12,5 g proteiinilisään punnittiin heraproteiiniseosjauhetta 14,7 g/litra. Tämä oli samaa kylmäkuivattua heraproteiinijauhetta kuin esimerkissä 6.

15 10 % proteiinilisä sisältää proteiinia 1,25 g. Tämän suuruiseen proteiinimäärään tarvittiin soijaproteiinia (DANPRO S-900 TS; Central Soya) 1,8 g.

Näyte A:han punnittiin kylmäkuivattua heraproteiinijauhetta 14,7 g/litra, näyte B:hen punnittiin samaa heraproteiinijauhetta 13,2 g/litra ja soijaproteiinijauhetta 1,8 g/litra sekä näyte C:hen samaa heraproteiinijauhetta 11,8 g/litra ja soijaproteiinijauhetta 3,6 g/litra. Proteiinijauheet sekoitettiin keskenään ja lisättiin rasvattomaan maitoon litaksi huolellisesti sekoittaen. Proteiiniseos sekoittui ja liukeni hyvin maitoon. Tämän jälkeen näytteet pastoroitiin 80 °C:ssa 15 min ja jäähdytettiin 44 °C:seen.

25

Hapatteena käytettiin Valio Oy:n valmistamaa maustamatonta jogurttia 4 % (0,5 litran tölkki, Tampere). Happaneminen kesti 43 °C:ssa 4,5 tuntia ja näytteiden pH:t olivat 4,55–4,60. Näytteet jäähdytettiin 20 °C:seen, muokattiin sekoittamalla ja siirrettiin jääkaappiin.

30

Koenäytteistä määritettiin SH-ryhmät,  $\mu$  mol/g proteiinia Ellmanin reagenssilla:

Koenäyte/ SH $\mu$ mol/ g proteiinia	A	B	C
Rasvaton maito + proteiiniscos	15,2	15,0	14,8
Pastoroinnin jälkeen	17,3	17,2	15,3

35 Koenäytteistä määritettiin viskositeetti yhden vuorokauden jälkeen valmistuksesta 10 °C:ssa Brookfield DV 1 Viscometer -laitteella (Kara 3, kierrosnopeus 12).

Näytteiden viskositeetit olivat

Koenäyte/viskositeetti	A	B	C
mPas	9400	9000	8500

- 5    Näyte A:            rakenne kiinteä ja tanakka; maku miellyttävä, raikas ja pehmeä.  
       Näyte B ja C:    rakenne kiinteä ja tasainen; maku miedon soijainen molemmissa, ei  
                                kuitenkaan häiritsevän voimakas.

#### 10    Esimerkki 9

- Rasvatonta jogurtia valmistettiin vertailunäyte ja kolme koenäytettä. Vertailunäytteen proteiinilisä oli gelatiinia. Koenäyte 1:n ja proteiinilisän määrä oli 10 g/litra sekä näyte 2:n ja 3:n 12,5 g/litra. Näytteissä 1 ja 2 proteiinilisänä käytettiin esimerkiksi 6 käytettyä kylmäkuivatua proteiiniseosta ja näytteessä 3 proteiinilisänä käytettiin esimerkissä 7 käytettyä muunnetun heraproteiinijauheen ja heraproteiinin konsentraattijauheen seosta.

- 20    Näyte 1:een punnittiin kylmäkuivatua proteiiniseosta 12,0 g/litra ja 2:een 14,7 g/litra. Näyte 3:een punnittiin heraproteiinijauheseosta 16,2 g/litra. Vertailunäytteeseen punnittiin gelatiinia 4 g/litra (Extragu). Proteiiniseosjauheet sekoitettiin huolellisesti rasvattomaan maitoon litraksi. Näyte 1:een ja 2:een lisätty proteiiniseos liukeni melko hyvin kylmään maitoon. Näyte 3:een lisätty proteiiniseos liukeni lämmittelyyn (20–30 °C) maitoon hyvin. Vertailunäytteen gelatiini sekoitettiin maitoon yli  
 25    50 °C:n lämpötilassa. Tämän jälkeen näytteet pastöroitiin 80 °C:ssa 15 min ja jäähdytettiin 42 °C:seen.

- 30    Hapatteena käytettiin Jo-Mix VM 1-30 (Danisco Cultor) jogurtihapatetta 5 g/litra. Hapatus tapahtui 42 °C:ssa ja se kesti vertailunäytteellä 3 tuntia 30 minuuttia pH 4,5:n saavuttamiseksi ja koenäytteillä 3 tuntia 50 minuuttia, jolloin hapatus lopetettiin. Näytteet jäähdytettiin alle 20 °C:seen, muokattiin sekoittamalla ja siirrettiin kylmiöön.

- 35    Näytteistä mitattiin pH ja viskositeetti kaksi päivää valmistuksen jälkeen ja suoritettiin aistinvarainen arviointi. Viskositeetti mitattiin Bohlin Visco (V) 88 o 30; system 3 -laitteella, nopeus 1.

Näyte	pH	Viskositeetti mPas
Vertailunäyte	4,32	1413
Koenäyte 1	4,33	1467
Koenäyte 2	4,36	1635
Koenäyte 3	4,36	1547

Aistinvarainen arviointi:

- 5 Vertailunäyte: ei heraa pinnalla, sileä, paksu rakenne  
 Koenäyte 1: ei heraa pinnalla, paksumpi vertailunäytettä, sileä, ei sivumakua  
 Koenäyte 2: ei heraa pinnalla, paksu rakenne, hiutaleinen, ei sivumakua  
 Koenäyte 3: ei heraa pinnalla, paksu rakenne, hiutaleinen, ei sivumakua

10

#### Esimerkki 10

- 15 Vehnäjauhoista leivottiin taikina, joka sisälsi muunnettua heraproteiinia ja vastaava vertailutaikina ilman muunnettua proteiinia. Taikinoiden venyvyyttä verrattiin toisiinsa. Venyvyys mitattiin ekstensografilla.

- 20 Vertailutaikina sisälsi 300 g vehnäjauhoja ja 2 g suolaa, jotka liuotettiin osaan vettä ja 212 ml vettä. Koetaikina sisälsi 300 g vehnäjauhoja ja 2 g suolaa, jotka liuotettiin osaan vettä, 211 ml vettä ja 4,5 g muunnettua heraproteiinia. Muunnetun heraproteiinin määrä oli 1,5 % jauhojen painosta.

- 25 Taikinat valmistettiin koetaikinan teko-ohjeen mukaan. Vertailutaikinan teossa oli ongelmana taikinan tarttuminen kaulimeen. Tämän takia taikinapallon pinnalla jouduttiin käyttämään vähän jauhoja. Vastaava määrä jauhoja lisättiin myös koetaikinapallon pinnalle. Määrittysten aikana voitiin havaita eroja taikinapalloissa; vertailutaikina oli pehmeämpää ja tarttuvampaa sekä vaikeammin käsiteltävää kuin koetaikina, joka oli kimmoisampaa ja vähemmän tarttuvaa.

Taulukossa on esitetty ekstensogrammin tunnusluvut vertailu- ja koetaikinalla.



**Koetaikinan ja vertailutaikinan ekstensogrammin tunnusluvut**

Koetaikina sisälsi 1,5 % muunnettua heraproteiinia ja 0,7 % suolaa jauhojen painosta ja vertailutaikina suolaa 0,7 % jauhojen painosta.

5

TUNNUSLUKU ka	KOETAIKINA			VERTAILUTAIKINA		
Nostatusaika (min)	45	90	135	45	90	135
Venyvyys A (mm)	205	171,5	178	241	205	178
Venyvyysvastus B (BU)	380	570	600	305	472,5	515
Pinta-ala (cm <sup>2</sup> )	98,3	118,9	107,5	82,7	107,5	103,8
B/A	1,85	3,32	3,37	1,27	2,30	2,89
Aistinvarainen arvio	Taikina kimmoisampaa ja lyhyempää			Taikina pehmeämpää ja venyvämpää		

- 10 Ekstensogrammitulosten perusteella todetaan, että taikinoissa oli selkeät erot. Venyvyys oli koetaikinalla pienempi kuin vertailutaikinalla ja venyvyysvastus ja pinta-ala olivat suuremmat. Tunnusluku B/A oli koetaikinalla suurempi kuin vertailutaikinalla. Koetaikina oli myös aistinvaraisesti kimmoisampaa ja lyhyempää sekä jäykempää kuin vertailutaikina.
- 15 Näiden tulosten perusteella voidaan sanoa, että muunnetulla heraproteiinilla oli selkeä vaikutus taikinaa vahvistavasti; koetaikina, jossa oli 1,5 % muunnettua heraproteiinia, oli kimmoisampi, vahvempi ja jäykempi. Ekstensiogrammin muodot olivat sellaiset, että ne ennakoivat hyvää leivän tilavuuspotentiaalia.
- 20 Edellä on kuvattu eräitä keksinnön mukaisia suoritusmuotoja. Keksintö ei rajoitu juuri kuvattuihin ratkaisuihin. Esimerkiksi menetelmää voidaan soveltaa muihinkin proteiinipitoisiin tuotteisiin ja elintarvikkeisiin kuin edellä on mainittu. Keksinnöllistä ajatusta voidaan soveltaa lukuisilla tavoilla patenttivaatimusten asettamissa rajoissa.

### Patenttivaatimukset

1. Menetelmä proteiinipitoisten tuotteiden rakenteen vahvistamiseksi tuotteen lämpökäsittelyn aikana muodostamalla proteiinien välille disulfidisidoksia, jolloin  
5 proteiinit muodostavat avaruusverkon, tunnettu siitä, että tuoteeseen lisätään ennen lämpökäsittelyä muunnettua proteiinia, joka on muunnettu avaamalla ainakin yksi proteiinissa alun perin oleva disulfidisidos vapaiden sulfhydryyliryhmien saamiseksi, ja mainitun lämpökäsittelyn seurauksena mainitut vapaat sulfhydryyliryh-  
mät saavat aikaan vaihtoreaktion, jossa mainittuja rakennetta vahvistavia disulfi-  
10 disidoksia muodostuu proteiinien välille.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että proteiini on muunnettu saattamalla se kosketuksiin sulfiitti-ioneja muodostavan reagenssin kanssa proteiinin sulfonoimiseksi.
- 15 3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu sulfiitti-ioneja muodostava reagenssi käsittää alkalimetallin tai maa-alkalimetallin sulfiittia, vetysulfiiittia tai metabisulfiiittia tai näiden yhdistelmiä.
- 20 4. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että vapaita sulfhydryyliryhmiä on tuotteen kokonaisproteiinissa ennen vaihtomuuntoa 0,5–60  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia.
- 25 5. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että muunnettu proteiini käsittää mitä tahansa syötäväksi kelpaavaa proteiinia.
6. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että muunnettu proteiini käsittää heraproteiinia.
- 30 7. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että muunnettu proteiini käsittää soijaproteiinia.
8. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että proteiinipitoinen tuote on elintarvike, rehu tai kodieläimen ruoka.
- 35 9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu elintarvike on jogurtti, viili, vanukas, levite, muu maitotuote tai taikina.

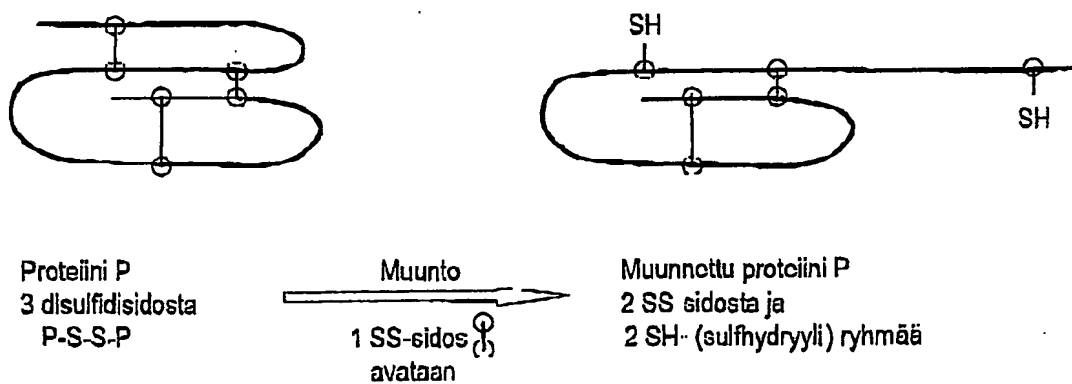
10. Proteiinipitoinen tuote, joka käsittää lämpökäsittelyssä syntyneen tuotteen rakennetta vahvistavan proteiinien välisten disulfididisosten muodostaman proteiinien avaruusverkon, **tunnettu** siitä, että mainittu proteiinien avaruusverkko on luotu lisäämällä ennen lämpökäsittelyä tuotteeseen muunnettua proteiinia, joka on muunnettu avaamalla ainakin yksi proteiinissa alun perin oleva disulfididisos vapaiden sulfhydryyliryhmien saamiseksi, jolloin mainitut rakennetta vahvistavat disulfidisidokset ovat syntyneet mainittujen vapaiden sulfhydryyliryhmien aikaansaamassa vaihtoreaktiossa mainitun lämpökäsittelyn seurauksena.
11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu proteiini on muunnettu saattamalla se kosketuksiin sulfiitti-ioneja muodostavan reagenssin kanssa proteiinin sulfonoimiseksi.
12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu sulfiitti-ioneja muodostava reagenssi käsittää alkalimetallin tai maa-alkalimetallin sulfiittia, vetysulfiittia tai metabisulfiittia tai näiden yhdistelmiä.
13. Jonkin patenttivaatimuksen 10–12 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että vapaita sulfhydryyliryhmiä on tuotteen kokonaisproteiinissa ennen vaihtomuuntoa 0,5–60  $\mu\text{mol/g}$  proteiinia.
14. Jonkin patenttivaatimuksen 10–13 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu muunnettu proteiini käsittää mitä tahansa syötäväksi kelpavaa proteiinia.
15. Jonkin patenttivaatimuksen 10–14 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu muunnettu proteiini käsittää heraproteiinia.
16. Jonkin patenttivaatimuksen 10–15 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu muunnettu proteiini käsittää soijaproteiinia.
17. Jonkin patenttivaatimuksen 10–16 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu tuote on elintarvike, rehu tai kotieläimen ruoka.
18. Patenttivaatimuksen 17 mukainen proteiinipitoinen tuote, **tunnettu** siitä, että mainittu elintarvike on jogurtti, viili, vanukas, levite, muu maitotuote tai taikina.

L3

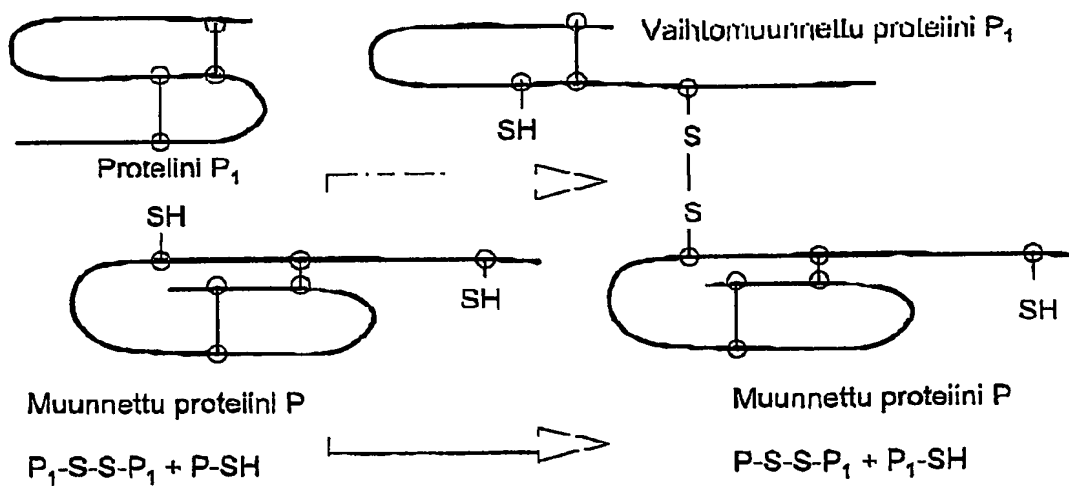
1

**(57) Tiivistelmä**

Keksinnön kohteena on menetelmä proteiinipitoisten tuotteiden, kuten elintarvikkeiden, rakenteen vahvistamiseksi muunnetun proteiinin avulla lämpökäsittelyssä muodostamalla proteiinien välille disulfidisidoksia, jolloin proteiinit muodostavat avaruusverkon. Keksinnön kohteena on myös menetelmällä valmistettu tuote.



Kuva 1



Kuva 2

L4

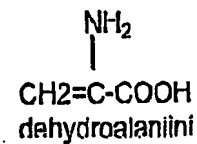
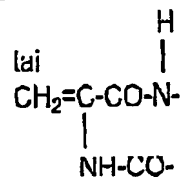
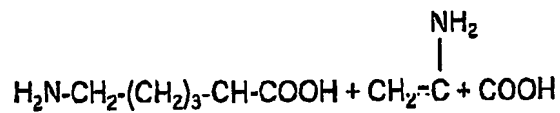
2



Kystiini  
Kysteliini  
Serini

α-eliminaatio

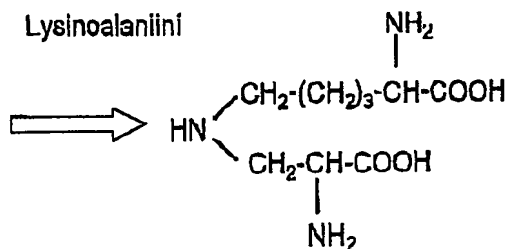
OH<sup>-</sup> ja kuumennus



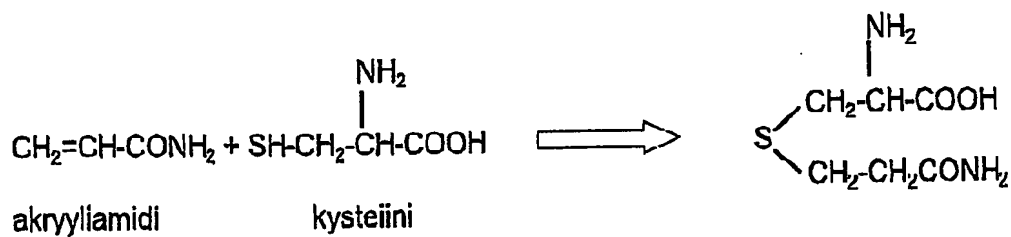
vapaa dehydroalaniini

tai

peptidissä/protiinissa



Kuva 5



Kuva 6

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/FI04/000619

International filing date: 15 October 2004 (15.10.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FI  
Number: 20031506  
Filing date: 15 October 2003 (15.10.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 03 December 2004 (03.12.2004)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**